

Т. Г. Шibaева  
Е.Ф. Марковская  
А.В. Мамаев

# ФИТОМЕЛАТОНИН



Федеральный исследовательский центр  
«Карельский научный центр Российской академии наук»  
Институт биологии КарНЦ РАН

**Т. Г. Шибасева, Е. Ф. Марковская, А. В. Мамаев**

# **ФИТОМЕЛАТОНИН**

*Учебное пособие*

Петрозаводск  
2018

УДК 577.175.1(075)

ББК 28.54я7

Ш 55

Рецензенты:

*И. А. Виноградова, доктор медицинских наук*

*А. В. Сони́на, доктор биологических наук*

**Шибаета Т. Г.**

Ш 55 Фитомелатонин: учебное пособие / Т. Г. Шибаета, Е. Ф. Марковская, А. В. Мамаев. – Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2018. – 51 с.: ил. 13, табл. 2. Библиогр. 58 назв.

ISBN 978-5-9274-0834-4

Мелатонин (N-ацетил-5-метокситриптамин) – гормон, индольное соединение, долгое время считавшееся присущим только животным и человеку. Через 30 лет после открытия мелатонина его присутствие было обнаружено в растениях. Ввиду универсальной представленности мелатонина у высших растений и его высоких концентраций в них, в отличие от животных организмов, в 2004 г. был предложен термин «фитомелатонин». В настоящее время доказанными биологическими эффектами фитомелатонина можно считать антиоксидантный, анти-стрессовый и ростостимулирующий. Участие же мелатонина в циркадной ритмике и фотопериодической регуляции, хорошо изученное у животных, у растений пока остается под вопросом. Предполагается возможность практического применения мелатонина для повышения стрессоустойчивости и продуктивности растений.

Учебное пособие знакомит с историей открытия и изучения мелатонина у растений, дает представление о его распространенности, химической структуре и метаболизме, физиологической активности и механизмах действия в растительном организме. Рассматриваются потенциальные возможности практического применения мелатонина в практике растениеводства.

Для студентов, аспирантов и сотрудников вузов и научных учреждений биологического и сельскохозяйственного профиля.

УДК 577.175.1(075)

ББК 28.54я7

ISBN 978-5-9274-0834-4

© Шибаета Т. Г., Марковская Е. Ф., Мамаев А. В., 2018

© Институт биологии КарНЦ РАН, 2018

© ФИЦ «Карельский научный центр РАН», 2018

© Петрозаводский государственный университет, 2018

---

## ВВЕДЕНИЕ

Сходство растительных и животных организмов на биохимическом уровне постоянно привлекает внимание ученых. Одним из соединений, общим для обоих царств, оказался мелатонин, который был открыт в 1958 г. как гормон, продуцируемый одним из наиболее таинственных органов животного организма – шишковидной железой, или эпифизом. Спустя 30 лет, в 1988 г., мелатонин был обнаружен у одноклеточных фотосинтезирующих водорослей, в 1993 г. – в высшем растении. В 1995 г. было показано, что это вещество широко представлено у высших растений. Дальнейшие исследования выявили мелатонин в прокариотах и ряде групп животных и растений. Наличие мелатонина в лишайниках не изучалось, а о его содержании в грибах, бактериях и низших растениях информация очень ограниченная.

Ввиду универсальной представленности мелатонина у высших растений и его высоких концентраций в них, в отличие от животных организмов, в 2004 г. был предложен термин «фитомелатонин». Первые работы по изучению фитомелатонина были в основном сосредоточены на его медицинской и пищевой ценности для животных и человека, ряд исследований посвящен изучению физиологической и биологической роли мелатонина в растениях. Различные функции мелатонина у растений исследованы в разной степени, но во всех случаях имеющиеся данные весьма многочисленны.

Учебное пособие знакомит с историей открытия и изучения мелатонина у растений, дает представление о его распространении, химической структуре и метаболизме, физиологической активности и механизмах действия в растительном организме. Рассматриваются также потенциальные возможности практического применения мелатонина в практике растениеводства.

---

## ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ МЕЛАТОНИНА У РАСТЕНИЙ

Мелатонин был открыт в 1958 г. А. Б. Лернером как гормон, продуцируемый эпифизом (шишковидной железой). Он присутствует практически во всех организмах, населяющих планету. У животных мелатонин имеет широкий спектр физиологических функций. Основными из них являются участие в формировании эндогенных биологических ритмов организма, цикла сон – бодрствование, регуляции температуры тела, участие в антиоксидантной защите организма, регуляции полового развития, иммуномодулирующее действие. Через 30 лет после открытия мелатонина у млекопитающих наличие его было показано у одноклеточных фотосинтезирующих водорослей *Lingulodinium polyedrum* (Stein) Dodge, ответственных за так называемые «красные приливы» (цветение воды, вызванное присутствием динофлагеллят), что сильно перевернуло представления об этом метоксииндоле. В 1993 г. мелатонин был обнаружен в высшем растении японской ипомее *Pharbitis nil* (L.) Choisy, но эти результаты не публиковались до 1995 г.

Почти одновременно, в 1995 г., двумя группами ученых из Германии и Японии были опубликованы еще две статьи, демонстрирующие присутствие мелатонина в высших растениях. Так с использованием радиоиммунного анализа (РИА) было показано наличие мелатонина в плодах и листьях шести исследуемых видов: картофеля (*Solanum tuberosum* L.), томата (*Solanum lycopersicum* L.), банана (*Musa x paradisiacal* L.), свеклы (*Beta vulgaris* L.), огурца (*Cucumis sativus* L.), табака (*Nicotiana tabacum* L.) (он отсутствовал только в клубнях картофеля), а по результатам газовой хромато-масс-спектрометрии выявлены большие различия в концентрации (2–510 пк/г сырого веса) между видами и даже между образцами одного вида растений. Исследования 24 видов пищевых растений из 12 семейств, относящихся к однодольным и двудольным,



также показали значительное варьирование содержания мелатонина (10–5300 пг/г сырого веса).

После этих публикаций о присутствии мелатонина в тканях высших растений основные вопросы, безусловно, оставались все еще без ответов. Непонятными были причины большой вариабельности концентрации мелатонина в растениях и функциональная значимость этого индоламина в клетках растений. Неизвестно было также, синтезируют ли растения мелатонин сами или поглощают его из среды.

С тех пор были проведены исследования количественного содержания мелатонина во многих растениях, и в настоящее время принято: мелатонин присутствует практически во всех организмах, населяющих планету, – от прокариот до эукариот и от животных до растений.

## **РАСПРОСТРАНЕНИЕ И СОДЕРЖАНИЕ МЕЛАТОНИНА В ВЫСШИХ РАСТЕНИЯХ**

Содержание мелатонина в растениях намного выше его содержания в крови позвоночных. В отличие от животных растения не могут активно избегать неблагоприятных условий, таких, как низкие и высокие температуры, избыток или недостаток воды, действие УФ-излучения или токсических элементов в почве. Поэтому высокое содержание мелатонина как антиоксиданта в растениях, возможно, является необходимостью для успешного произрастания в неблагоприятных условиях.

На сегодняшний день существуют неоспоримые свидетельства присутствия мелатонина в высших растениях в концентрациях от пикограмм до нанограмм на грамм ткани (табл. 1). Однако не все представленные в литературе данные одинаково надежны и точны. Отчасти это связано с нестабильностью мелатонина в экстрактах, что приводит к заниженным концентрациям. Кроме того, обнаружены ограничения в использовании метода РИА, так как компоненты растительного материала реагируют с используемыми в нем антителами, что может приводить к завышению содержания мелатонина. Так, например, не подтвердились данные о высоком содержании мелатонина

в растениях овса (*Avena sativa* L.) и имбиря (*Zingiber officinale* Roscae), который позже был обнаружен в них лишь в следовых количествах. В растениях ипомеи и томата содержание мелатонина по результатам газовой хромато-масс-спектрометрии также оказалось ниже измеренного с помощью РИА. Известно также о том, что не только виды, но и сорта одного вида растений могут значительно отличаться по содержанию мелатонина. Например, содержание мелатонина в томатах (*Solanum lycopersicum* L.) сорта Марбон (114.5 нг/г сыр. веса) в 28 раз превышает его содержание у сорта Каталина (4.1 нг/г сыр. веса), а земляника (*Fragaria x ananassa*) сорта Фестиваль (11.26 нг/г сыр. веса) содержит в 8 раз больше мелатонина, чем сорт Камароза (1.4 нг/г сыр. веса).

Таблица 1

**Содержание мелатонина в высших растениях**  
(по: Kolar, Mackackova, 2005, с дополнениями)

Вид растения и орган	Концентрация мелатонина	Метод определения мелатонина
<i>Prunus cerasus</i> , плоды	2–13 нг/г сыр. веса	ВЭЖХ* с электрохимическим способом детекции
<i>Solanum lycopersicum</i> , <i>Musa x paradisiaca</i> , <i>Beta vulgaris</i> , <i>Cucumis sativus</i> , плоды	2–510 пг/г сыр. веса	РИА**; ГХ-МС***
<i>Nicotiana tabacum</i> , листья	40–100 пг/г сыр. веса	РИА; ГХ-МС
24 вида съедобных растений (однодольные и двудольные), съедобные части	10–5300 пг/г сыр. веса	РИА; ВЭЖХ с флуоресцентным способом детекции
<i>Lupinus albus</i> , гипокотиль	9–28 нг/г сыр. веса	ВЭЖХ с электрохимическим способом детекции; ЖХ-МС/МС****
Китайские медицинские травы (108 видов), различные органы	До 3800 нг/г сух. веса (более чем 10 нг/г сух. веса в 64 видах)	ВЭЖХ с флуоресцентным способом детекции; ЖХ-МС/МС
<i>Chenopodium rubrum</i> , побеги	До 250 пг/г сыр. веса	РИА; ЖХ-МС/МС
15 видов съедобных растений, семена	2–190 нг/г сух. веса	РИА; ВЭЖХ с электрохимическим способом детекции

<i>Hypericum perforatum</i> , цветки	До 4000 нмоль/г сыр. веса	ВЭЖХ с электрохимическим способом детекции; РИА и ЖХ-МС/МС
<i>Tanacetum parthenium</i> , <i>Hypericum perforatum</i> , два вида <i>Scutellaria</i> , листья или цветки	0.1–2.5 мкг/г сух. веса	Не указано
<i>Scutellaria baicalensis</i> , побеги 26 линий, размноженные <i>in vitro</i>	9–44000 нмоль/г сух. веса	ВЭЖХ с электрохимическим способом детекции; РИА и ЖХ-МС/МС
<i>Pharbitis nil</i> , побеги; <i>Solanum lycopersicum</i> , плоды	до 12–17 пг/г сыр. веса	РИА, ГХ-МС
12 сортов <i>Lycopersicon esculentum</i> , плоды	4–114 нг/г сыр. веса	ЖХ-МС/МС
4 сорта <i>Fragaria ananassa</i> , плоды	1.4–11.3 нг/г сыр. веса	ЖХ-МС/МС
<i>Vitis vinifera</i> , плоды	0.005–0.96 нг/г сыр. веса	ВЭЖХ с флуоресцентным способом детекции
<i>Coffea canephora</i> , зерна	115±6 мкг/г сыр. веса	ВЭЖХ с электрохимическим способом детекции; РИА и ЖХ-МС/МС
<i>Malus domestica</i> , плоды	0.05–0.16 нг/г сыр. веса	РИА
<i>Ananas comosus</i> , плоды	0.04–0.3 нг/г сыр. веса	РИА, ИФА*****, ВЭЖХ с флуоресцентным способом детекции
<i>Punica granatum</i>	0.17 нг/г сыр. веса	ЖХ-МС/МС
<i>Citrus reticulate</i> <i>Mangifera indica</i> <i>Carica papaya</i>	0.15 нг/г сыр. веса 0.7 нг/г сыр. веса 0.24 нг/г сыр. веса	ИФА, ВЭЖХ с флуоресцентным способом детекции
<i>Prunus avium</i>	0–0.2 нг/г сыр. веса	ЖХ-МС/МС
<i>Ficus carica</i> , плоды, листья	12.9 нг/г сыр. веса 3.9 нг/г сыр. веса	ИФА
<i>Zea mays</i> <i>Oryza sativa</i>	1.87 нг/г сыр. веса 1.49 нг/г сыр. веса	ВЭЖХ с флуоресцентным способом детекции
<i>Hordeum vulgare</i>	0.87 нг/г сыр. веса	ВЭЖХ с флуоресцентным способом детекции

\* ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография; \*\* РИА – радиоиммунный анализ;  
\*\*\* ГХ-МС – газовая хроматография с масс-спектрометрией; \*\*\*\* ЖХ-МС/МС – жидкостная  
хроматография с тандемной масс-спектрометрией; ИФА\*\*\*\*\* – иммуноферментный анализ.



## МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕЛАТОНИНА В РАСТЕНИЯХ

Мелатонин в растениях может быть определен различными методами, каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки. Для экстракции мелатонина из растительного материала некоторые авторы используют очень простые растворители – этанол, 10 %  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , фосфатный солевой буфер, калий-фосфатный буфер. Однако отмечено, что материал от одноклеточных эукариот и растений часто содержит соединения (например, хелатированное железо или редокс-активные биомолекулы), которые способствуют деградации мелатонина посредством фотоокисления или свободнорадикального окисления. Рекомендуется применять 0.4 М  $\text{HNCIO}_4$  для осаждения белков (что устраняет возможную ферментативную деградацию мелатонина) и эффективные тушители гидроксильного радикала (ацетон, трис- $\text{HCl}$  буфер или **Tricine/NaOH буфер**) с добавлением **антиоксидантов** для экстракции. Процедура должна проводиться при тусклом красном свете или в темноте во избежание фотоокисления.

Мелатонин иногда измеряют непосредственно в экстрактах. Тем не менее рекомендуется проводить очистку образцов для удаления соединений, мешающих определению мелатонина. В некоторых исследованиях применялась твердофазная экстракция с помощью картриджей C18, иногда с последующим фракционированием методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Другие авторы извлекали мелатонин из водных экстрактов в органические растворители – хлороформ или диэтиловый эфир. Также для очистки образцов используется иммуноаффинная хроматография, отличающаяся высокой селективностью.

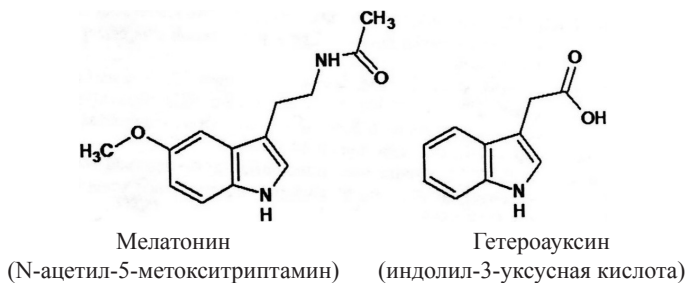
Мелатонин был обнаружен в растениях методами, ранее применяемыми на животных. Эти методы различаются своей чувствительностью и специфичностью. Метод ВЭЖХ с флюоресцентным способом детекции оказался недостаточно чувствительным, чтобы доказать наличие мелатонина в побегах *Chenopodium rubrum*, но был успешно применен для количественного определения мелатонина в лекарственных растениях, используемых в китайской медицине. ВЭЖХ с электрохимическим способом детекции относительно более чувствительный метод

и часто применяется для определения мелатонина в водорослях и высших растениях, несмотря на его относительно низкую специфичность, так как многие соединения с сопоставимым окислительным потенциалом могут иметь время удерживания, очень сходное с мелатонином. Радиоиммунный метод (РИА) определения концентрации мелатонина является более специфичным и широко используется в работе с образцами животного происхождения. В основе РИА лежит феномен конкуренции: связывание антител с антигеном, меченным радиоактивным изотопом, подавляется в присутствии немеченого антигена. Однако тщательные исследования показали, что растительные экстракты содержат много веществ, которые перекрестно реагируют с анти-мелатониновыми антителами. Поэтому уровень мелатонина в растениях, определенный только с помощью РИА и не подтвержденный другими методами, может оказаться переоцененным.

Таким образом, для определения мелатонина в растениях РИА не является надежным методом. Сочетание газовой хроматографии с масс-спектрометрией (ГХ/МС) или ВЭЖХ/МС является одним из наиболее эффективных высокочувствительных методов, обладающим превосходной специфичностью определения, и помогает избежать проблем, упомянутых выше. Содержание мелатонина можно измерять непосредственно с помощью ВЭЖХ/МС или после его превращения в летучее производное (например, пентафлуоропропионил с помощью ГХ/МС). Оба метода применяются для количественного определения мелатонина у животных и успешно опробованы на растениях. Метод ВЭЖХ-МС/МС дает явные преимущества: во-первых, не требуется превращения мелатонина в производные соединения, как этого требует ГХ/МС; во-вторых, метод ион-парной ВЭЖХ обеспечивает наиболее высокую из достижимых в настоящее время специфичность для мелатонина.

## **СИНТЕЗ МЕЛАТОНИНА В РАСТЕНИЯХ, ПОГЛОЩЕНИЕ ЭКЗОГЕННОГО МЕЛАТОНИНА**

Одним из возможных предшественников в биосинтезе мелатонина ( $C_{13}H_{16}N_2O_2$ , N-ацетил-5-метокситриптамин) (рис. 1) является аминокислота триптофан. У животных триптофан под действием фермента

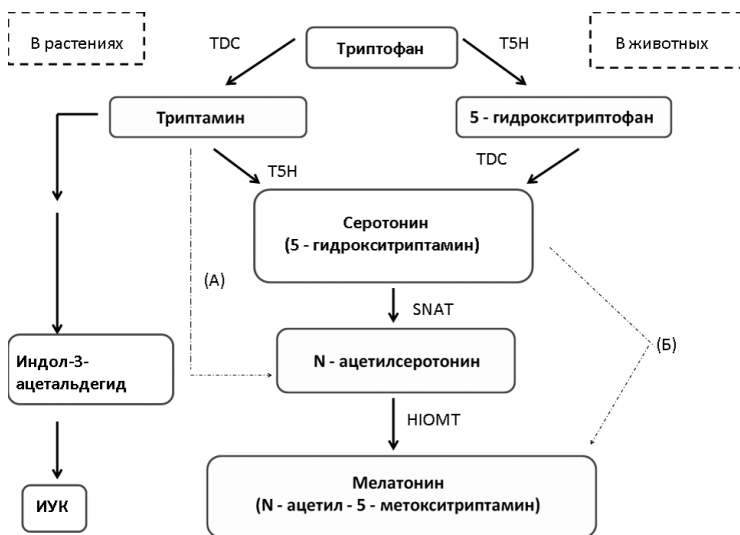


**Рис. 1.** Структурные формулы мелатонина и индолилуксусной кислоты (ИУК)

триптофангидроксилазы превращается в 5-гидрокситриптофан, который декарбоксилируется, превращаясь сначала в серотонин (5-гидрокситриптамин), а затем в два этапа модифицируется до мелатонина при участии ферментов серотонин-N-ацетилтрансферазы и гидроксидиндол-О-метилтрансферазы (рис. 2). Было высказано предположение, что биохимический путь синтеза мелатонина у растений вряд ли сходен с таковым у животных. Эксперименты на растениях зверобоя *Hypericum perforatum* L., отличающегося высоким содержанием мелатонина, с введением триптофана с радиоактивной меткой доказали, что триптофан является источником для синтеза мелатонина, серотонина и индолил-уксусной кислоты (ИУК) в растениях.

Другие эксперименты с водяным гиацинтом (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) также показали повышение содержания мелатонина при добавлении триптофана в среду. Введение триптофана в высечки листьев фиалки (*Viola odorata* L.) не изменило уровня мелатонина, однако при введении триптамина, следующего соединения, синтезируемого из триптофана, привело к увеличению содержания мелатонина, что подтверждает гипотезу биосинтеза мелатонина из триптофана. Индуцированное старением накопление серотонина в растениях риса (*Oryza sativa* L.) коррелировало с экспрессией триптофандекарбоксилазы, и у трансгенных растений с супрессированной экспрессией триптофандекарбоксилазы вырабатывалось меньше серотонина, что поддерживает гипотезу о пути биосинтеза мелатонина в растениях. Выдвинуто предположение, что реакция, катализируемая триптофандекарбоксилазой, является ограничивающим скорость этапом, отли-

чающимся от пути биосинтеза мелатонина у животных, у которых декарбоксилирование катализируется декарбоксилазой ароматических аминокислот после гидроксирования триптофана.



**Рис. 2.** Схема биосинтеза мелатонина (по: Arnao, Hernandez-Ruiz, 2014):

TDC – триптофандекарбоксилаза, T5H – триптофан-5-гидроксилаза, SNAT – серотонин-N-ацетилтрансфераза, HIOMT – гидроксииндол-O-метилтрансфераза (А) и (Б) – два альтернативных пути биосинтеза: (А) – синтез N-ацетилсеротонина из триптамина с помощью ферментов серотонин-N-ацетилтрансферазы и триптофан-5-гидроксилазы, в качестве промежуточного продукта – N-ацетилтриптамин; (Б) – образование мелатонина непосредственно из серотонина с помощью ферментов гидроксииндол-O-метилтрансферазы и серотонин-N-ацетилтрансферазы, в качестве промежуточного продукта – 5-метокситриптамин. Индол-3-ацетальдегид – вторичный продукт, образованный при превращении триптамина в ИУК (гетероауксин)

Полученные данные свидетельствуют о том, что основным местом синтеза мелатонина в растениях являются хлоропласты. Этот факт согласуется с симбиотическим происхождением хлоропластов: их предшественниками были цианобактерии, которые синтезируют мелатонин. Клонированы гены ферментов, участвующих в синтезе мелатонина. Кроме того, осуществлен синтез эндогенного мелатонина с использованием трансгенных технологий.

Часть вопросов по биосинтезу фитомелатонина остаются, однако, нерешенными. Непонятно, например, является ли предположенный путь биосинтеза мелатонина общим для всех растений. Участие триптофана в биосинтезе фитомелатонина можно считать доказанным, но это не отвергает гипотез об участии других индольных соединений, учитывая существование «нетриптофановых» путей биосинтеза ИУК. Еще меньше ясности в понимании механизмов регуляции биосинтеза мелатонина. Отмечено, что облучение ультрафиолетом В приводило к увеличению его содержания в корнях солодки *Glycyrrhiza uralensis* (Fisher.), а у растений водного гиацинта его содержание было выше в условиях естественного солнечного освещения по сравнению с искусственным. В работе на мари красной (*Chenopodium rubrum* L.) было, однако, показано, что в суточном цикле содержание мелатонина увеличивалось в темное время суток. Несомненно, требуются дополнительные исследования и расширение видового состава растений для понимания путей и способов регуляции синтеза фитомелатонина.

Растения способны поглощать мелатонин из среды выращивания. Показано, что при выращивании водного гиацинта в среде с добавлением мелатонина (5 мкМ) его содержание в листьях значительно увеличивалось по сравнению с растениями, растущими в среде без мелатонина, что свидетельствует о способности корней поглощать экзогенный мелатонин и транспортировать его в другие органы. Применение такой же дозы мелатонина при выращивании растений гороха (*Pisum sativum* L.) на загрязненной медью почве привело к увеличению выживаемости растений по сравнению с растениями, растущими на почве, не обогащенной мелатонином. Косвенно это свидетельствует о поглощении растениями мелатонина и его участии в формировании устойчивости.

Не только корни, но и листья растений обладают способностью поглощать мелатонин. Так, инкубирование высечек листьев ячменя (*Hordeum vulgare* L.) или семядолей люпина (*Lupinus albus* L.) в средах с возрастающей концентрацией мелатонина привело к зависимому от действующей дозы накоплению мелатонина в листьях. При этом не наблюдалось насыщения при использовании концентраций от 0.1 мкМ до 1 мМ. Структурно схожий гормон ауксин поглощается с помощью насыщаемых переносчиков, но для мелатонина они не обнаружены. Химически мелатонин – маленькая молекула

с липофильными и гидрофильными свойствами, что способствует ее свободному прохождению через морфологические и физиологические барьеры и дальнейшему быстрому транспорту по межклеточным и межтканевым пространствам внутри растения.

## МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ МЕЛАТОНИНА

Роль и механизмы действия мелатонина в растениях изучены не полностью. Известно, что в отклике растения на факторы окружающей среды на клеточном уровне участвуют сигнальные пути, включающие G-белки (гуанозинтрифосфат (ГТФ)-связывающие белки), передающие сигнал на фермент фосфолипазу С. Фосфолипаза С участвует в превращении фосфоинозитидов, что оказывает влияние на кальциевые каналы и ионный насос и приводит к высвобождению ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из внутриклеточных систем хранения (вакуоли, митохондрии, эндоплазматическая сеть) в цитозоль. Кроме внутриклеточной передачи сигнала с помощью ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , факторы окружающей среды могут стимулировать и других посредников передачи сигнала, таких, например, как циклический аденозинмонофосфат (цАМФ) и циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ). На примере морской одноклеточной водоросли *Gonyaulax polyedra* показано, что мелатонин включается в состав внутриклеточных рецепторов, связанных с G-белками и локализованных в вакуолярных мембранах, что приводит к выкачиванию протонов. Первой наблюдаемой реакцией *Gonyaulax polyedra* на повышение концентрации мелатонина в среде было 90-кратное увеличение биолюминисценции, совпадающее с перемещением протонов в цитоплазму. Изменения внутриклеточной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  и снижение pH внутри клетки имеют решающее значение для формирования цист. Работы с *Gonyaulax polyedra* показали, что фосфоинозитолы также принимают участие в образовании цист. Предположено, что индуцированное мелатонином цистообразование происходит в результате трансформации мелатонина в 5-метокситриптамиин, индуцирует активность вакуолярной  $\text{H}^{+}$ -АТФазы, что приводит к снижению внутриклеточной pH. Таким образом, ритмические изменения в концентрации мелатонина могут быть связаны с сигнальными путями при участии цАМФ и ионов  $\text{Ca}^{2+}$ .



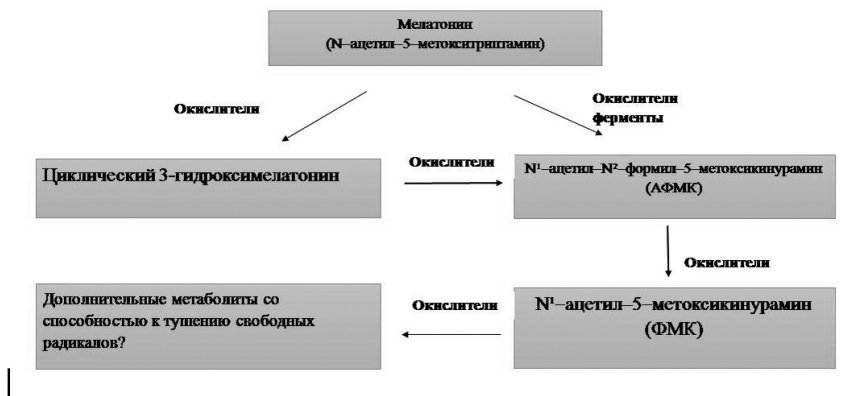
У животных мелатонин распознается многочисленными мембранными рецепторами. У млекопитающих и человека действие мелатонина осуществляется посредством активации по меньшей мере двух высокоаффинных мембранных рецепторов, связанных с G-белками, – MT1 и MT2, а также специфических ядерных рецепторов NR1F1 и NR1F2, относящихся к стероидно-тиреоидному семейству ядерных рецепторов. Позднее у позвоночных и, в частности, у человека был также обнаружен оригинальный связывающий белок (названный сначала MT3-рецептором), который на самом деле является хинон-редуктазой II и имеет дополнительный сайт связывания с мелатонином (QR2).

На сегодняшний день у растений не идентифицированы белки, сходные с рецепторами мелатонина у животных. Это не означает, что они не существуют, а скорее связано с тем, что не проводилось специальных исследований в поисках таких рецепторов. Возможно, в растениях существуют рецепторы другого типа, но также возможно, что мелатонин реализует свои эффекты, воздействуя через рецептор-независимый механизм. Такой механизм действия мелатонина на нейронном уровне описан у животных.

Поскольку мелатонин оказывает сходное с ауксинами действие на образование корней и рост coleoptilya, было предположено, что мелатонин может действовать по такому же пути, как ауксины. Однако несмотря на схожесть структуры молекул мелатонина и индолилуксусной кислоты (ИУК) (см. рис. 1) молекула мелатонина не удовлетворяет структурным требованиям к молекулам для осуществления биологической активности ауксинового типа. Так, например, боковая цепь мелатонина не является кислотой. Маловероятно, что мелатонин имеет такой же механизм действия, как ауксины, но он может метаболизироваться в ИУК или оказывать влияние на их содержание.

Было предположено, что мелатонин улучшает редокс-статус клеток, снижая уровень АФК и активных форм азота, стабилизируя биологические мембраны, как он действует в животных клетках. Действуя как тушитель свободных радикалов, мелатонин образует метаболиты, которые также тушат свободные радикалы. Эта серия реакций значительно повышает способность мелатонина уменьшать окислительный стресс (рис. 3). То, что мелатонин функционирует в растении

## Каскадное действие мелатонина как антиоксиданта



## Редукция окислительного стресса

Рис. 3. Антиоксидантный каскад реакций с участием мелатонина  
(по: Reiter et al., 2015)

как тушитель свободных радикалов, подкрепляется и тем фактом, что концентрации мелатонина значительно выше у растений в условиях солнечного освещения (10000–15000 мкВт/см<sup>2</sup>), способствующего высокой фотосинтетической активности и, как следствие, образованию свободных радикалов, нежели в условиях искусственного освещения (400–450 мкВт/см<sup>2</sup>). Вероятно, увеличение количества свободных радикалов инициирует компенсаторное увеличение содержания мелатонина для защиты от окислительного стресса. Авторы работ по исследованию солевого загрязнения предполагают, что благотворное действие мелатонина связано с его способностью противостоять окислительному стрессу и стимулировать активность антиоксидантных ферментов. Однако повышенная соленость оказывает на растения и другие неблагоприятные воздействия, не связанные с образованием свободных радикалов. Таким образом, точный механизм того, как мелатонин способствует выживанию растений в токсичных условиях засоления, до сих пор еще не определен.

Модель действия мелатонина как регулятора роста растений и биостимулятора представлена на рис. 4.



## БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ МЕЛАТОНИНА В РАСТЕНИЯХ

Мелатонин был обнаружен в растениях два десятка лет назад, и с тех пор его изучение было в основном сосредоточено на медицинской и пищевой ценности для животных и человека и мало внимания уделялось его потенциальной физиологической и биологической роли в самих растениях. Однако сегодня выявление новых функций мелатонина в растениях стало быстро прогрессирующей областью исследований. Различные функции мелатонина у высших растений исследованы в разной степени, но во всех случаях имеющиеся данные весьма немногочисленны (табл. 2).

### Роль мелатонина в процессах роста и развития растений

Мелатонин по своей молекулярной структуре сходен с ИУК, наиболее распространенным природным ауксином, стимулирующим рост растений. Обе молекулы имеют индольное кольцо, но отличаются числом замещающих групп (см. рис. 1). Сходство молекулярной структуры предполагает и сходные функции. Действительно, ауксиноподобная активность мелатонина нашла экспериментальные подтверждения.

**Надземные органы.** Мелатонин в низких концентрациях может стимулировать рост растений в длину, а в высоких концентрациях оказывает ингибирующее действие. Это было установлено в опытах на этиолированных гипокотильях люпина и колеоптилях нескольких злаков (пшеницы (*Triticum aestivum* L.), овса, ячменя, канареечника (*Phalaris canariensis* L.)). По сравнению с ИУК, однако, эффект был значительно слабее. Исследование различных концентраций мелатонина (0.01–100 мкМ) показало, что эффект зависит от дозы и является видоспецифичным. Это связано с разной интенсивностью его поглощения: наибольшая концентрация мелатонина выявлена (методом ВЭЖХ) в пшенице, а самая низкая – в канареечнике. В работах, где показано влияние мелатонина на различные ростовые показатели, во многих случаях ростостимулирующее действие мелатонина на надземную часть растений сходно с действием ИУК.

Таблица 2

**Функции мелатонина у высших растений**  
(по: Arnao, Hernandez-Ruiz, 2014, с дополнениями)

	Физиологическое действие мелатонина	Источник
Вегетативный рост и развитие	Стимулирование роста проростков	Hernandez-Ruiz et al., 2004, 2005; Hernandez-Ruiz, Arnao, 2008; Posmyk et al., 2008
	Стимулирование (малыми дозами) или ингибирование (более высокими дозами) роста первичных корней	Hernandez-Ruiz et al., 2005; Chen et al., 2009; Park, Back, 2012
	Стимулирование (малыми дозами) или ингибирование (более высокими дозами) роста боковых и придаточных корней	Arnao, Hernandez-Ruiz, 2007; Park, Back, 2012; Sarropoulou et al., 2012; Koyama et al., 2013; Zhang et al., 2013, 2014, 2017; Mukherjee et al., 2014; Sarrou et al., 2014
	Модификация развития стеблей и листьев (ветвления)	Ramakrishna et al., 2009; Okazaki et al., 2010; Wang et al., 2014
	Замедление потерь хлорофилла во время старения листьев	Arnao, Hernandez-Ruiz, 2009; Wang et al., 2012, 2013; Zhang et al., 2013
	Увеличение скорости фотосинтеза, поглощения CO <sub>2</sub> и накопления биомассы	Tal et al., 2011; Sarropoulou et al., 2012; Byeon et al., 2013; Lazar et al., 2013; Wang et al., 2013; Zhang et al., 2013; Byeon, Back, 2014
	Стимулирование ризогенеза и каулогенеза в культуре тканей	Murch et al., 2001; Murch, Saxena, 2002; Jones et al., 2007
	Криосохранение каллуса или верхушек побегов для длительного хранения	Zhao et al., 2011; Szafranska et al., 2013; Uchendu et al., 2013
	Функции хронорегулятора	Wolf et al., 2001; Tan et al., 2007; Boccalandro et al., 2011; Tal et al., 2011; Zhao et al., 2012
Репродуктивное развитие	Влияние на различные стадии развития цветка у некоторых видов	Murch, Saxena, 2002; Kolar et al., 2003; Murch et al., 2009; Park et al., 2013; Byeon, Back, 2014
	Изменение содержания в ходе развития плодов и формирования семян у некоторых видов	Manchester et al., 2000; Murch et al., 2009; Okazaki, Ezura, 2009; Murch et al., 2010; Zhao et al., 2012; Lei et al., 2013; Riga et al., 2014
	Ускорение созревания плодов	Sunetal., 2015

Условия стресса	Влияние на рост растений в условиях стресса, например, низких или высоких температур, засухи, УФ излучения, химических стрессоров и гербицидов	Afreen et al., 2006; Arnao, Hernandez-Ruiz, 2009; Kang et al., 2010; Li et al., 2012; Wang et al., 2012, 2013, 2014; Zhang et al., 2012; 2013; Park et al., 2013; Bajwa et al., 2014; Byeon, Back, 2014; Turk et al., 2014
	Увеличение уровня пролина у растений в условиях стресса	Sarropoulou et al., 2012
	Увеличение скорости прорастания семян в условиях стресса	Tan et al., 2007; Posmyk et al., 2008, 2009; Tiryaki, Keles, 2012; Zhang et al., 2013
	Повышение устойчивости яблони <i>Malus prunifolia</i> к патогенному грибку <i>Diplocarpon mali</i> ; повышение чувствительности к авирулентному патогену <i>Pseudomonas syringae</i> van Hall pv. TomatoDC3000 с элиситором avrRpt2 у двух мутантных линий <i>Arabidopsis thaliana</i> при снижении уровня мелатонина	Yin et al., 2013; Lee et al., 2015

Ряд исследований выполнен на трансгенных растениях, например, на растениях томата, сверхэкспрессирующих ген индоламин-2,3-диоксигеназы (ИДО) риса. Этот фермент участвует в метаболизме мелатонина, поддерживая в растении его низкое содержание. У трансгенных растений с пониженным содержанием мелатонина изменяется форма листа: лист уплощается, уменьшаются его краевая зазубренность и число боковых листочков. Однако ИДО размыкает индольное кольцо у всех индоламинов, и поэтому в трансгенных растениях, вероятно, изменялась концентрация и других молекул, имеющих сходную структуру, например ИУК, что тоже могло приводить к нарушению развития листьев. Следовательно, точный механизм нарушения развития листьев у растений томата с пониженным содержанием мелатонина требует дополнительного изучения.

Для исследования действия мелатонина были созданы и трансгенные растения томата сорта Micro-Tom с положительной регуляцией

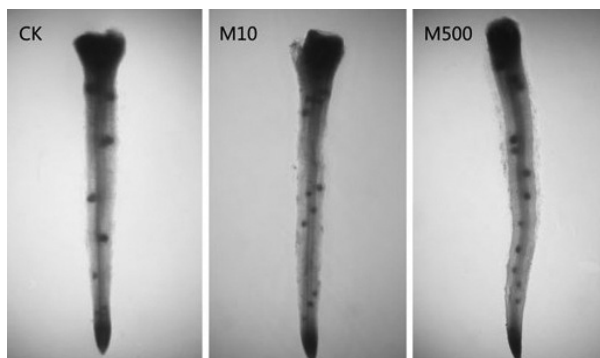


уровня мелатонина. Эти растения сверхэкспрессируют ген фермента арилалкиламин-N-ацетилтрансферазы (AANAT), активность которого обычно коррелирует с содержанием мелатонина. В листьях некоторых из этих растений было отмечено значительное увеличение содержания мелатонина (в 7 раз больше, чем в листьях растений дикого типа), но никаких фенотипических изменений у них отмечено не было. Это согласуется с результатами работы на культуре тканей зверобоя *in vitro*, где повышенный уровень мелатонина в мутагенных тканях не привел к каким-либо структурным изменениям листьев, регенерирующих из ткани гипокотыля. На основании этих исследований сделан вывод, что повышенный уровень мелатонина в растениях не вызывает морфогенетических эффектов, тогда как пониженный уровень может иметь негативное воздействие на развитие листьев растений.

**Подземные органы.** Как известно, образование боковых корней в большой степени регулируется ауксинами. Многочисленные исследования показали, что экзогенный мелатонин стимулирует образование и рост боковых корней аналогично действию ИУК и его действие зависит от концентрации. Так, в диапазоне концентраций от 0.001 до 100 мкМ мелатонин в низких дозах стимулирует рост корней, а при высоких концентрациях (10–100 мкМ) был отмечен ингибирующий эффект.

Исследования, проведенные на *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., показали, что мелатонин не активирует экспрессию ауксин-индуцируемых генов, которые управляют морфогенезом корней. Кроме того, не было обнаружено и ингибирующего действия мелатонина в большой концентрации (до 600 мкМ) на рост корней *A. thaliana*. Это исследование выявило независимое от ИУК действие мелатонина.

Аналогичный результат был получен в работе по влиянию мелатонина на экспрессию генов, определяющих рост боковых корней у растений огурца. Анализ семян огурца, обработанных раствором мелатонина высокой концентрации (500 мкМ), показал положительную регуляцию экспрессии 121 гена и отрицательную регуляцию 196 генов. На основе анализа параметров экспрессии высказана гипотеза о роли генов пероксидаз в стимулирующем действии мелатонина на рост боковых корней. Окрашивание корней (по Фельгену)



**Рис. 5.** Окрашенные (по Фельгену) корни огурца с видимыми (темные точки) примордиями боковых корней:

мелатонин в концентрации 10 мкМ (M10) или 500 мкМ (M500) увеличил число примордиев боковых корней по сравнению с контролем (CK) (по: Zhang et al., 2014)

для идентификации примордиев боковых корней позволило увидеть (рис. 5), что мелатонин увеличивает их число, тем самым подтверждается его стимулирующая роль в процессах корнеобразования.

В противоположность стимулированию образования новых корней ауксин ингибирует рост уже существующих корней. На ряде видов однодольных растений показано, что экзогенный мелатонин, подобно ИУК, также ингибировал рост уже существующих корней. В опытах на корнях горчицы (*Brassica juncea* (L.) Czern.) **увеличение концентрации мелатонина** приводило к возрастанию содержания ИУК с насыщением при концентрации выше 0.1 мкМ. Наблюдаемый эффект ингибирования предположительно был вызван увеличением содержания ауксинов.

### **Роль мелатонина в других физиологических процессах у растений**

Исследования в этом направлении единичны. Так, показано, что у растений с повышенным содержанием мелатонина наблюдаются более высокий уровень β-каротиноидов, увеличение эндогенного уровня витаминов Е и С и снижение уровня глутатиона. Кроме того, в процессе приобретения окраски этиолированные проростки риса

с гиперэкспрессией гена фермента AANAT (активность которого обычно коррелирует с содержанием мелатонина) имели не только высокий уровень мелатонина, но и более высокое содержание хлорофиллов, чем у растений дикого типа. При обработке проростков огурца мелатонином отмечено увеличение скорости нетто-фотосинтеза. Такой эффект наблюдался при оптимальной температуре и в условиях неблагоприятного действия высокой температуры. Эти данные свидетельствуют о стимулирующем эффекте экзогенного мелатонина на фотосинтетическую функцию растений.

Вопрос об участии мелатонина в фотопериодической реакции растений практически не изучен. При обработке мелатонином короткодневных экотипов *Chenopodium rubrum*, имеющих ночной пик содержания мелатонина, индукции цветения не отмечалось. Не наблюдалась индукция цветения мелатонином и у других короткодневных растений, таких, как *Pharbitis nil*, *Kalanchoe tubiflora* (Harv.) Raym.-Hamet и трех видов рясовых (*Lemnaceae*). Интересно, что задержку цветения наблюдали и у длиннодневного *Arabidopsis thaliana*, и у трансгенного риса, гиперэкспрессирующего ген фермента серотонин-N-ацетилтрансферазы (SNAT), первого фермента, участвующего в синтезе мелатонина из серотонина. Отрицательное действие мелатонина на индукцию цветения и у короткодневных, и у длиннодневных растений предположительно указывает на более общую морфогенетическую роль мелатонина в растениях, а не только на его участие в фотопериодической реакции.

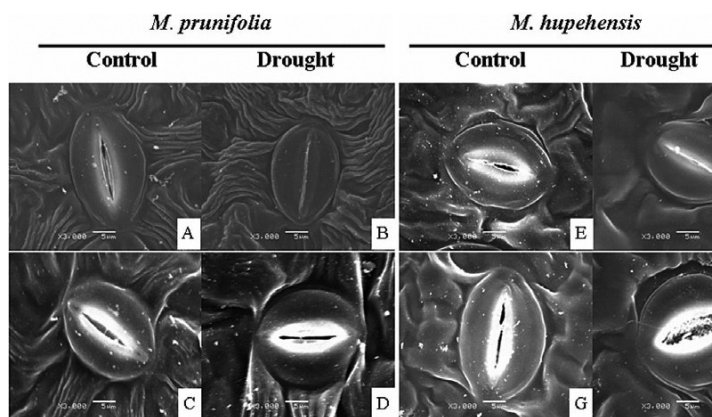
### **Роль мелатонина в устойчивости растений к абиотическим стрессам**

**Засуха и водный дефицит.** Первые работы о том, что мелатонин повышает устойчивость растений к засухе, появились в 2013 г. В опытах с однолетними саженцами яблони *Malus domestica* Borkh. снижали объем полива на 50 %, при этом в контроле полив производили водой, а опытные растения с водой получали и мелатонин (100 мкМ). Если у контрольных растений отмечались деградация хлорофилла, снижение эффективности работы ФС II, появление признаков окислительно-

го стресса, то в опытных растениях (обработанных мелатонином) эти изменения были значительно меньше или отсутствовали. У последних отмечалась высокая активность антиоксидантных ферментов и аскорбат-глутатионового цикла. Было сделано заключение, что мелатонин функционирует как антиоксидант и защищает растения от засухи. Это заключение получило поддержку и в работе на растениях томата, гиперэкспрессирующих гены ключевых ферментов синтеза мелатонина гидроксииндол-О-метилтрансферазы (ГИОМТ) и AANAT, которые сравнивали с растениями дикого типа по их отношению к засухе. И трансгенные, и растения дикого типа демонстрировали существенную потерю тургора после 20 суток нахождения в режиме дефицита воды. Через 48 часов режима нормального водоснабжения трансгенные растения, однако, практически полностью восстанавливались, тогда как контрольные растения, лишённые возможности синтезировать дополнительный мелатонин, оставались в состоянии сильного завядания.

Обработка семян огурца мелатонином (100 мкМ) устраняет ингибирование прорастания семян в условиях водного стресса. Черенки винограда (*Vitis vinifera* L.), обработанные мелатонином, демонстрировали большую устойчивость к водному дефициту, которую оценивали по содержанию малонового альдегида (продукт перекисного окисления липидов), содержанию хлорофилла и эффективности работы фотосистемы II (ФС II). Предполагается, что защитный эффект мелатонина объясняется его способностью тушить свободные радикалы и стимулировать работу антиоксидантных ферментов, что хорошо известно из работ на животных.

Сравнение действия мелатонина в условиях водного дефицита у засухоустойчивого (*Malus prunifolia* (Willd.) Borkh) и чувствительного к засухе (*M. hupehensis* (Pamp.) Rehder) видов яблони показало, что у обоих видов мелатонин способствовал сохранению воды в листьях, снижал выход электролитов, уменьшал снижение содержания хлорофилла и усиливал фотосинтез. Механизм его действия также включал подавление экспрессии гена синтеза абсцизовой кислоты (АБК) (*MdNCED3*) и стимуляцию экспрессии генов катаболизма АБК (*MdCYP707A1* и *MdCYP707A2*), что приводило к снижению уровня АБК и сохранению устьиц в открытом состоянии (рис. 6). В этих условиях мелатонин стимулировал работу



**Рис. 6.** Сканирующие электронные микрофотографии устьиц листьев *Malus prunifolia* и *Malus hupehensis*:

А и Е – открытые устьица контрольных листьев; В и F – закрытые устьица листьев растений, подверженных засухе в течение 5 суток; С и G – **открытые устьица** контрольных листьев, обработанных 100 мкМ мелатонином; D и H – открытые устьица листьев растений, подверженных засухе будучи предобработанными мелатонином (по: Li et al., 2015)

ферментов, метаболизирующих  $H_2O_2$  до безвредных веществ. Было предположено, что мелатонин может применяться как средство для снижения последствий засухи у растений яблони.

К такому же выводу пришли и авторы работ, где было показано, что мелатонин не только оказывает защитное действие на растения в условиях недостатка воды, но и помогает растениям восстановиться в последствии в условиях нормального водоснабжения. В работах на *A. thaliana* было показано, что под действием низких температур, стимулирующих синтез мелатонина (как и дефицит воды), происходит положительная регуляция генов, связанных с водным дефицитом, например, транскрипционных факторов DREBs (dehydrationresponse element binding factors). Таким образом, получены убедительные данные о способности мелатонина повышать засухоустойчивость растений.

**Низкая температура.** Мелатонин, будучи антиоксидантом, снижает эффект перекисного окисления липидов (ПОЛ) в клеточных мембранах и тем самым повышает устойчивость растений к действию низ-

ких температур. Так, предпосадочная обработка семян огурца в растворе мелатонина повышала процент прорастания семян при температуре 10 °С. Растения *A. thaliana*, выращенные при температуре 4 °С и обработанные мелатонином, имели более высокие значения массы, высоты растения и длины корней по сравнению с необработанными растениями. Эффект зависел от концентрации мелатонина и времени воздействия низкой температуры. Обработка мелатонином растений *A. thaliana* привела к активации экспрессии некоторых генов холодового ответа: генов транскрипционных факторов CBFs (C-repeat-binding factors), COR15a (Cold-Regulated 15A), CAMTA1 (Calmodulin Binding Transcription Activator 1), ключевых факторов транскрипции антиоксидантных генов ZAT10 и ZAT12 (zinc-fingerproteins). Таким образом, эти данные свидетельствуют об участии мелатонина в регуляции экспрессии широкого спектра специфических генов холодового ответа.

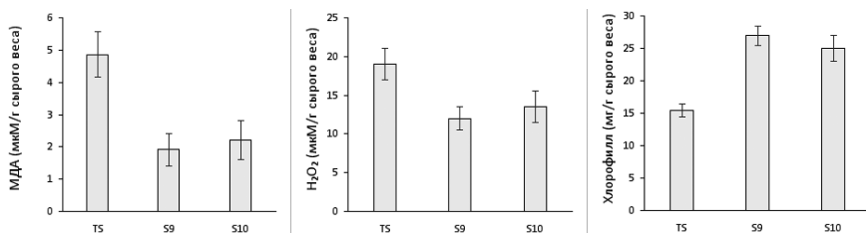
**Химический стресс.** Роль мелатонина у растений в условиях химического стресса (тяжелые металлы, опасные химические вещества) изучалась в ряде работ. Установлено, что растения ячменя и люпина, обработанные различными химическими веществами (цинк, перекись водорода, хлорид натрия), имели более высокое содержание эндогенного мелатонина, величина которого зависела от времени и концентрации действующих веществ. Применение экзогенного мелатонина привело к улучшению роста и выживаемости в присутствии этих химических стрессоров. Исследования на примере гороха показали, что растения, обработанные экзогенным мелатонином, становятся более устойчивыми к действию тяжелых металлов (меди) и увеличивают способность к фиторемедиации – поглощению тяжелых металлов из загрязненных почв (рис. 7). Более подробные исследования были выполнены на проростках краснокочанной капусты *Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra* DC. Семена капусты обрабатывали растворами мелатонина (1, 10, 100 мкМ), а проростки подвергали действию 0.5 мМ CuSO<sub>4</sub>. У растений, семена которых были обработаны 1 или 10 мкМ раствором мелатонина, окислительный стресс, индуцированный медью и зафиксированный в виде усиления ПОЛ и блокирования репликации ДНК, был значительно снижен. Мелатонин в концентрации 100 мкМ имел обратное действие и усиливал окислительное повреждение, вызванное CuSO<sub>4</sub> у проростков.





**Рис. 7.** Фотографии растений гороха до обработки медью (наверху) и тех же растений через 15 дней после обработки медью (внизу): растение слева поливали только водой (погибло), справа – водой с добавлением мелатонина (по: Tan et al., 2007)

Трансгенные растения риса с высоким уровнем мелатонина показали повышенную устойчивость к гербициду бутафенацилу, который генерирует реакционноспособный синглетный кислород. Контрольные и опытные, богатые мелатонином, семена прорастивали в условиях темноты. Когда этиолированные растения были перенесены в световые условия, у контрольных растений наблюдался некроз, а у растений с высоким уровнем мелатонина выделены фенотипы, устойчивые к бутафенацилу. Устойчивые проростки также имели высокое содержание хлорофилла и низкое содержание МДА (рис. 8).



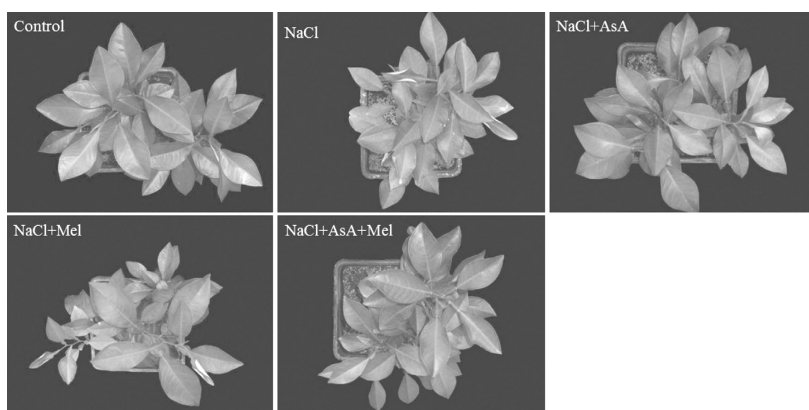
**Рис. 8.** Содержание малонового диальдегида (МДА) (А), пероксида водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Б) и хлорофилла (В) в проростках риса, обработанных бутафенацилом:

TS – проростки с нормальным содержанием мелатонина, S9 и S10 – проростки трансгенных растений с повышенным содержанием мелатонина (по: Park et al., 2013)

В этой работе было впервые показано, что мелатонин защищает растения от токсического действия гербицида, который стимулирует продукцию АФК и вызывает окислительные повреждения. Действие мелатонина сходно с результатами, полученными на животных, у которых гербициды оказывают токсическое действие по тому же механизму, а мелатонин предотвращает повреждения.

**Солевой стресс** остается одной из самых актуальных проблем в стресс-физиологии. Ряд исследований свидетельствуют о том, что мелатонин способен индуцировать процессы защиты растений от солевого стресса. Показано, что предварительная обработка растений *Malus hupehensis* 1 мкМ мелатонином снижала эффекты торможения роста, снижения интенсивности фотосинтеза, содержания хлорофилла, нарушения поглощения калия, вызванные солевым стрессом или дефицитом минерального питания. Возможно, что генетически модифицированные растения с высоким уровнем мелатонина, примеры которых уже созданы, будут способны расти на засоленных почвах.

Мелатонин также был использован отдельно (1 мкМ) и в комбинации с аскорбиновой кислотой (0.5 мМ) для защиты растений померанца *Citrus aurantium* L. от солевого стресса (100 мМ NaCl) (рис. 9). Сеянцы



**Рис. 9.** Фенотипы *Citrus aurantium*, проростки которого в течение 30 дней подвергались различным воздействиям:

(А) Контроль; (В) 100 мМ NaCl; (С) NaCl + 0,5 мМ аскорбиновой кислоты; (D) NaCl + 1 мкМ мелатонина; (Е) NaCl + аскорбиновая кислота + мелатонин (по: Kostopoulou et al., 2015)

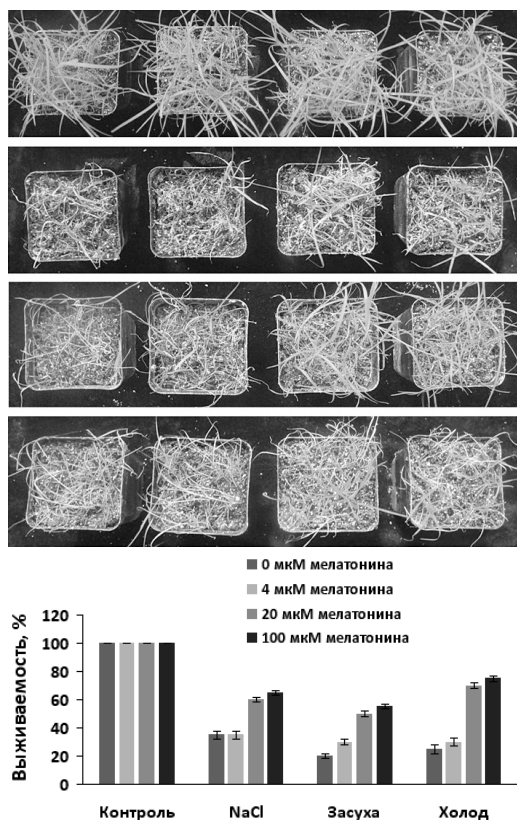
померанца выращивали в тепличных условиях в течение 30 дней при загрязнении почвы NaCl (100 мМ). У растений, получавших с водой аскорбиновую кислоту и/или мелатонин, отмечено снижение выхода электролитов, уменьшение уровня ПОЛ и снижение деградации хлорофилла. Геномный анализ показал увеличение экспрессии генов *CaMIPS*, *CaSLAH1* и *CaMYB73*, связанных с метаболизмом сахаров, ионным гомеостазом и регуляцией транскрипции. При этом отмечен синергизм действия аскорбиновой кислоты и мелатонина, приводящий к большему повышению солеустойчивости в случае их совместного применения.

**Ультрафиолетовое (УФ) излучение** высокой интенсивности генерирует свободные радикалы в тканях животных и растений. Когда растения *Glycyrrhiza uralensis* были подвержены УФ-излучению в диапазоне В, уровень мелатонина в корнях увеличился в несколько раз. Предполагается, что увеличение уровня мелатонина связано с его функцией защиты растения от окислительного стресса, вызванного свободными радикалами, образовавшимися в результате действия УФ-излучения. Основываясь на выводах о повышении уровня мелатонина в ответ на действие УФ-излучения, можно предположить, что растения, произрастающие под озоновыми дырами и высоко в горах, могут иметь повышенное содержание эндогенного мелатонина.

Генетические исследования были проведены на растениях *A. thaliana*, помещенных на 16 часов в растворы, содержащие 100 пМ или 1 мМ концентрации мелатонина. С использованием полногеномного анализа было показано, что в ответ на низкую концентрацию (100 пМ) растения демонстрировали незначительный отклик в виде стимулирования экспрессии 51 гена и подавления экспрессии 30 генов. Доза мелатонина в 1 мМ привела, однако, к стимулированию экспрессии 566 генов (в 10 раз больше) и подавлению экспрессии 742 генов (в 20 раз больше). Большинство генов, экспрессия которых была стимулирована, относятся к генам защиты от стрессов. Негативной регуляции подверглись гены, связанные с ауксиновым откликом, передачей сигнала и участвующие в синтезе компонентов клеточной стенки.

При изучении функциональной значимости мелатонина у пальчатника *Cynodon dactylon* (L.) Pers. (бермудская трава), который является экономически важной культурой, возделываемой в качестве дернообразующего злака для газонов, парков и спортивных площадок, опыт включал

действие разных концентраций (4, 20, 100 мкМ) мелатонина в течение 7 суток, которые в последующие 21 сутки подвергались стрессу: водному дефициту, низкой температуре (4 °С) или сильному засолению (до 300 мМ) (рис. 10). Мелатонин увеличил содержание хлорофилла, высоту и биомассу растений, а также было отмечено увеличение содержания 54 различных метаболитов. Полногеномный и полнотранскриптомный анализ экспрессии генов выявил около 4000 транскриптов, которые дифференциально экспрессировались вследствие обработки



**Рис. 10.** Применение экзогенного мелатонина повысило устойчивость к абиотическому стрессу у пальчатника. Растения выращивали в присутствии мелатонина в разных концентрациях и подвергали солевому стрессу (NaCl), засухе или холоду (4 °С) (по: Shi et al., 2015)

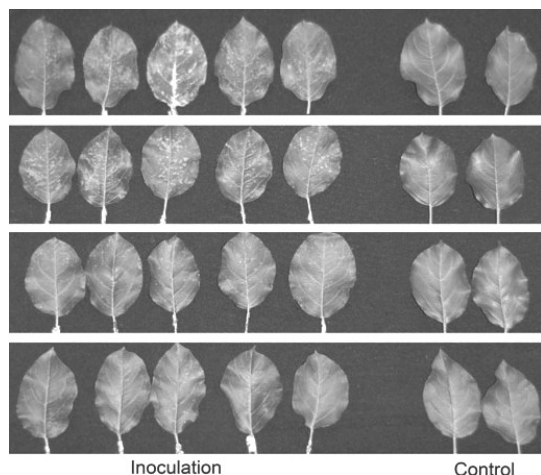
растений мелатонином. Таким образом, мелатонин оказывал значительное влияние на азотный и углеводный метаболизм и транскриптомное репрограммирование, что увеличило выживаемость растений, которая положительно коррелировала с концентрацией мелатонина в листьях.

### **Роль мелатонина в устойчивости растений к биотическим стрессам**

Исследования роли мелатонина в повышении устойчивости растений к биотическим стрессам единичны, тем не менее они показывают способность мелатонина снижать чувствительность растений к некоторым патогенам.

Пятнистость листьев яблони – серьезное грибковое заболевание, вызываемое патогеном *Diplocarpon mali*. Больные деревья рано теряют листья, что снижает их устойчивость и урожай плодов. Грибок изначально поселяется на листьях, но может впоследствии распространяться и на плоды. На листьях китайской яблони (*Malus prunifolia*) провели проверку эффективности мелатонина в качестве ингибитора этой фитопатологии. Предварительно обработанные листья оказались более устойчивыми к грибковому патогену (рис. 11), о чем свидетельствовали меньшая площадь повреждения, более высокая эффективность работы ФСЦ, **большее содержание хлорофилла**, меньшее внутриклеточное содержание  $H_2O_2$  и повышенное содержание ферментов с защитными функциями. Механизмы повышения устойчивости в результате действия мелатонина пока не ясны. Предполагается, что использование мелатонина для предварительной обработки листьев может быть эффективной стратегией борьбы с грибковой пятнистостью листьев у яблони.

Чтобы оценить эффективность мелатонина в повышении устойчивости к биотическому стрессу был использован и иной подход. Вместо внесения дополнительного мелатонина был инактивирован ген серотонин-N-ацетилтрансферазы у двух мутантных линий арабидопсиса, имеющих T-DNA вставку, что привело к значительному снижению уровня эндогенного мелатонина в этих растениях. В результате они показали повышенную чувствительность к авирулентному патогену *Pseudomonas syringae* vanHallpv. TomatoDC3000 с элиситором avrRpt2.



**Рис. 11.** Листья яблони 20 суток спустя после инокуляции спорами *Diplocarpon mali*:

контрольные листья не подвергались обработке спорами. Инокулированные листья были политы растворами без мелатонина (А) или мелатонином в концентрации 0.05 мМ (В), 0.1 мМ (С) или 0.5 мМ (D) (по: Yin et al., 2013)

Снижение устойчивости к этому патогену сопровождалось снижением индукции экспрессии генов *PR1* (pathogenesis-related protein 1), *ICS1* (immotilecilia syndrome 1), *PDF1.2* (plant defensin 1.2), которые в норме обеспечивают защиту растений от бактериальных патогенов. Поскольку мелатонин стимулирует синтез салициловой кислоты, сниженный уровень мелатонина у мутантных растений мог привести к снижению уровня салициловой кислоты, что, в свою очередь, сделало растения более восприимчивыми к патогену.

## РОЛЬ МЕЛАТОНИНА ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ РАСТЕНИЙ В КУЛЬТУРЕ ТКАНИ

Широкий спектр действия мелатонина предполагает возможность его использования в культуре ткани. Показано, что эксплантаты верхушек побегов черешни (*Prunus avium* L.), растущие *in vitro* в среде, содержащей мелатонин, показали 5-кратное увеличение уровня пролина



и 3-4-кратное увеличение содержания хлорофилла. Эти результаты свидетельствуют о том, что мелатонин может выполнять роль маркера стрессоустойчивости посредством осморегуляторного механизма. При действии низкой температуры на суспензию клеток моркови (*Daucus carota* L.), вызывающей апоптоз клеток, добавка мелатонина в миллимолярной концентрации подавляла этот процесс.

Исследователи считают, что ингибирование апоптоза связано с увеличением содержания путресцина и спермидина в клетках моркови, которые способствуют выживаемости клеток. Широко используемый процесс криоконсервации связан с опасностью гибели экспериментального материала в условиях низкой температуры. Защитная роль мелатонина была отмечена при криоконсервации каллуса *Rhodiola crenulata* L. и при восстановлении меристемных клеток растений маша *Vigna radiata* (L.) Wilczek после охлаждения. Присутствие 0.1–0.5 мкМ мелатонина в культивационной среде и в среде, где происходило возобновление роста, усилило отрастание замороженных эксплантатов побегов вяза американского *Ulmus americana* L., указывая на положительный эффект мелатонина при длительном хранении гермоплазмы культуры клеток растений.

## ЦИРКАДНАЯ РИТМИКА И МЕЛАТОНИН

Мелатонин участвует в циркадной ритмике и фотопериодической регуляции у млекопитающих и птиц, выполняя функцию хронорегулятора. В крови млекопитающих уровень мелатонина строго изменяется в суточном цикле, достигая минимальных значений днем и максимальных ночью. Поскольку это присуще всем млекопитающим вне зависимости от характера их локомоторной активности, мелатонин назвали гормоном темноты или химическим выражением темноты. Суточные колебания уровня мелатонина у животных нарушаются, если ночь прерывается светом, тогда как в условиях постоянной темноты ритмы сохраняются, это указывает на то, что они действительно циркадные.

С тех пор как мелатонин был обнаружен в фототрофных организмах, ученые пытались выяснить, выполняет ли мелатонин и у них те же функции, что и у позвоночных. Фактически ранние данные о суточных

изменениях содержания мелатонина, казалось, поддерживают предположения о сходстве функций. Циркадные ритмы с сильно выраженным пиком содержания мелатонина в ночное время были выявлены и у двух организмов, представляющих растительные хронобиологические модели – динофлагелляты *Lingulodinium polyedrum* и эвгленовой водоросли *Euglena gracilis* Klebs, а также у модельного фотопериодического растения *Chenopodium rubrum*, т. е. у трех филогенетически удаленных видов. Связь мелатонина с темнотой была подтверждена данными, полученными для двух видов фотосинтезирующих альфапротеобактерий: у *Rhodospirillum rubrum* уровень мелатонина был выше ночью, а у *Erythrobacter longu* содержание мелатонина было намного выше при выращивании в темноте, чем на свету. Суточная ритмика изменения содержания мелатонина отмечена у красной водоросли *Porphyra umbilicalis* Kützinger и зеленых водорослей *Chlamydomonas*, *Dunaliella* и *Acetabularia*.

Влияние фотопериода на уровень мелатонина было показано у зеленой водоросли *Dunaliella*. На основании этих данных возникло предположение, что у растений, как и у животных, ритм содержания мелатонина может давать информацию о продолжительности ночи. Более подробное изучение изменения содержания мелатонина на протяжении суток, проведенное на *Acetabularia acetabulum* (Linnaeus) P.C. Silva, **выявило: значительные колебания уровня мелатонина имеют сложный характер и изменчивость пиковых фаз, что не позволяет классифицировать их как ритмы.** В работе на водном гиацинте было показано, что уровень мелатонина изменяется в течение суток и достигает максимума к концу светового периода.

Исследования на двух сортах черешни *Prunus avium* показали, что уровень мелатонина в плодах варьирует в суточном цикле, имея два пика – утром и после полудня, когда температура и освещенность максимальны. В растениях винограда не обнаружена суточная периодичность в содержании мелатонина, но отмечены непродолжительные резкие пики. Полулунный ритм содержания мелатонина был описан у зеленых макроводорослей рода *Ulva*. У свободно плавающих водорослей, даже в камеральных условиях постоянного фотопериода и уровня воды, концентрация мелатонина демонстрировала полулунный ритм с максимальным содержанием во время отлива. Такие ритмы физиологических процессов с периодичностью 14.8 суток присущи

морским растениям и вызываются периодичностью низких отливов. Повышение содержания мелатонина перед предстоящим низким отливом связано, вероятно, с тем, что во время таких отливов водоросли подвергаются действию повышенных температур, обезвоживанию и колебаниям солености, и это вызывает окислительный стресс.

В целом все эти исследования говорят о том, что мелатонин не функционирует у фототрофных растений как «сигнал темноты», хотя, возможно, у некоторых видов или таксонов такая роль мелатонина и существует. У некоторых растений выработка мелатонина индуцируется видимым светом или УФ-излучением. Вполне возможно, что экспрессия генов, участвующих в синтезе мелатонина, происходит в результате действия света, а не циркадного осциллятора. Кроме того, свидетельства, подтверждающие циркадную ритмику мелатонина у фототрофов, чрезвычайно скудны. На сегодняшний день только у *Lingulodinium* обнаружен устойчивый свободнотекущий ритм содержания мелатонина, сохраняющийся в постоянных условиях, с эндогенными периодами, отличающимися от периодов действия внешних факторов, что является основным критерием эндогенного ритма.

## РОЛЬ МЕЛАТОНИНА В ПРОЦЕССАХ СТАРЕНИЯ

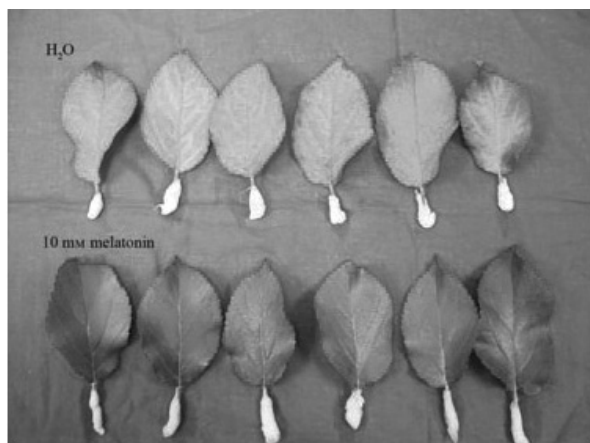
Хорошо известно, что у животных мелатонин замедляет старение и в определенных условиях может увеличивать продолжительность жизни. Исследования влияния мелатонина на процессы старения у растений не очень сопоставимы с работами на животных, потому что они фокусировались на старении листьев, а не на выживании всего организма. Тем не менее есть некоторые общие черты в процессах старения животных и растений, так как в обоих случаях происходит накопление окислительных повреждений и мелатонин может замедлять старение благодаря своим антиоксидантным свойствам.

В вопросе о возможной роли мелатонина в процессе старения листьев необходимо различать три аспекта: (1) экзогенные причины, вызванные стрессами разного типа; (2) действие фитогормонов, индуцирующих старение; (3) гормональное противодействие или замедление старения.

Полученные данные о роли мелатонина в старении растений пока не позволяют сделать однозначных выводов. В работе на рисе выявлено, что у 7-дневных проростков, сверхэкспрессирующих ген фермента AANAT (в результате чего повышается уровень мелатонина), ингибируется экспрессия трех генов старения, кодирующих жасмонат-индуцируемый белок SAG29 (*SENESCENCE-ASSOCIATED GENE 29*), связанный со старением, и полигалактуроназу. Эти данные согласуются со свидетельствами о замедлении индуцированного темнотой старения сегментов листьев ячменя мелатонином (1 мМ), который задерживает деградацию хлорофилла. Показано также, что мелатонин ингибирует экспрессию хлорофиллазы (CLH1) у арабидопсиса. Если это происходит и в других растениях, то может служить объяснением замедления разрушения хлорофилла, отмеченном в ряде работ. Эффект мелатонина на сегменты листьев ячменя сохранялся даже в присутствии АБК. В таком случае, однако, требовались очень высокие концентрации мелатонина (0.1–1 мМ), и это указывает на то, что эффект, по-видимому, был связан не с физиологическим действием мелатонина, а с нейтрализацией АФК.

Данные результаты нашли подтверждение в экспериментах на листьях яблони, в которых старение было индуцировано тремя способами: отделением листьев от растения, недостатком воды или естественным образом. Показано, обработка мелатонином способствует сохранению хлорофилла (рис. 12), замедляя индукцию экспрессии гена, кодирующего ключевой фермент деградации хлорофилла (феофорбид-а оксигеназу), усиливая экспрессию хлорофилл *a/b* связывающего белка и Рубиско, поддерживая высокий уровень активности ФС II и содержания конечных продуктов фотосинтеза (сорбитола, сахарозы и крахмала).

Дополнительно было показано ингибирование экспрессии гена старения *SAG12* (*SENESCENCE-ASSOCIATED GENE 12*) и влияние мелатонина на некоторые окислительно-восстановительные параметры, а именно снижение содержания  $H_2O_2$  и глутатиона, повышение содержания аскорбиновой кислоты и повышение активности окислительно-восстановительных ферментов, таких, как дегидроаскорбат-и монодегидроаскорбатредуктаза, аскорбат пероксидаза, глутатион редуктаза, каталаза и пероксидаза.



**Рис. 12.** Листья яблони, обработанные водой (А) или раствором мелатонина (10 мМ) (В) и содержащиеся 12 суток в темноте (по: Wang et al., 2012)

Кроме того, мелатонин ингибировал экспрессию гена старения *HXK1* (hexokinase isoenzyme PI-gene) и положительную регуляцию различных генов автофагии (*ATG*), которая обычно происходит на заключительной стадии старения. Протеомный анализ листьев, естественное старение которых было замедлено в результате обработки мелатонином, показал, что из сотен белков, синтез которых был изменен мелатонином, большинство располагается в пластидах. В целом мелатонин ингибировал синтез тех белков, которые обычно синтезируются во время процессов старения.

Имеются, однако, и работы о стимуляции старения листьев растений, обработанных мелатонином. Транскриптомный анализ растений *A. thaliana*, обработанных мелатонином, показал положительную регуляцию большого числа генов, участвующих в сигналинге индуцирующих или ускоряющих старение фитогормонов, таких, как этилен, АБК, жасмоновая и салициловая кислоты. Это указывает на ускорение старения при действии мелатонина, что согласуется с данными о значительном увеличении содержания триптофана, серотонина, N-ацетилсеротонина и мелатонина в стареющих листьях риса, индуцированного отделением их от расте-

ния. Важно, однако, учитывать и другие возможные причины повышения содержания вышеперечисленных фитогормонов, такие, как реакция на стресс, их защитная и ранозаживляющая функции.

На растениях *A. thaliana* показано, что уровень мелатонина возрастает по мере развития растения, особенно на более поздних стадиях (от 0.5 до 2.0 нг/г сырого веса за период с 30-го по 60-й день). При обработке 60-дневных растений экзогенным мелатонином старение розеточных листьев было замедлено, о чем судили по содержанию хлорофилла. При этом выявлена негативная регуляция экспрессии генов *AXR3* (*AUXINRESISTANT 3*) и *IAA17* (*INDOLE-3-ACETIC ACID INDUCIBLE 17*). Подавление экспрессии *IAA17* мелатонином могло вызвать снижение экспрессии генов *SENESCENCE 4* и *SENESCENCE-ASSOCIATED GENE 12*. Результаты показали, что ген *IAA17*, влияющий на старение растений *A. thaliana*, может быть частью сигнального пути, с помощью которого мелатонин модулирует старение растений.

В какой степени данные результаты свидетельствуют о непосредственном участии мелатонина в контроле за генами старения и может ли это быть связано с пересечением с сигнальными путями других фитогормонов – этот вопрос остается открытым. Использование очень высоких концентраций мелатонина может указывать на то, что непосредственно сигнальная функция не является решающей, так как в противном случае намного меньшие концентрации должны были быть эффективными. Возможно, объяснением служит антиоксидантное действие мелатонина. У млекопитающих, у которых антиоксидантные свойства мелатонина хорошо изучены, защитные механизмы весьма сложны и включают как непосредственную нейтрализацию свободных радикалов, так и положительную регуляцию антиоксидантных ферментов, и подавление процессов, генерирующих свободные радикалы.

Пока не вполне ясно, существует ли у растений, имеющих высокие концентрации других антиоксидантов, необходимость участия мелатонина в «тушении» АФК. Ответ на этот вопрос может зависеть от содержания мелатонина, которое очень сильно различается у видов растений. От других антиоксидантов мелатонин выгодно отличается двумя свойствами: (1) даже в высоких физиологических концентрациях он лишен окислительно-восстановительного цикла; (2) благодаря амфифильности он способен действовать в водной и липидной среде, легко

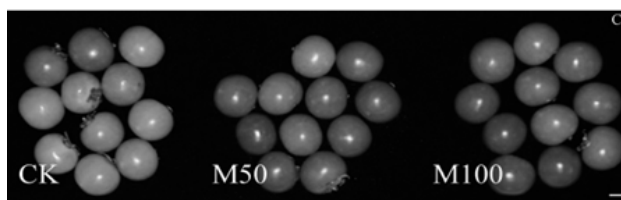
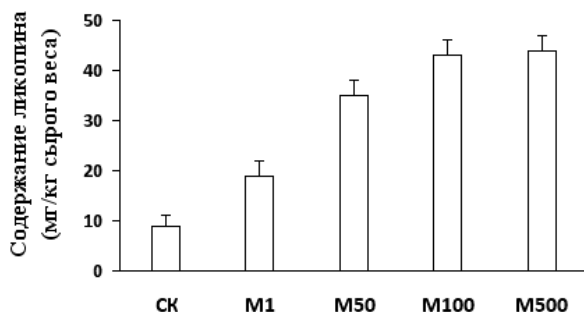
проникать через мембраны и достигать всех отделов клетки. Независимо, каким образом осуществляется защитное действие – путем непосредственного «тушения» свободных радикалов, косвенно через действие антиоксидантных ферментов или ослабление образования свободных радикалов, предотвращение быстрого разрушения органелл должно замедлять индукцию генов старения, таких, как *PAO*, *HXK1*, *SAG12* и *ATG*. Такая интерпретация предполагает, что замедление старения благодаря мелатонину главным образом связано с более высокой устойчивостью к действию неблагоприятных факторов, нежели с антагонизмом с индуцирующими старение гормонами или стимуляцией замедляющих старение факторов, таких, например, как кинетин. Тем не менее два последних варианта требуют непосредственной проверки.

## ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА УРОЖАЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

Одной из наиболее перспективных сельскохозяйственных культур мира является высокопродуктивная соя (*Glycine max* (L.) Merr.), производство которой постоянно увеличивается. Ведутся активные поиски путей увеличения урожайности сои, так как площади, занятые культурой, в будущем останутся прежними или даже сократятся. Эксперименты по влиянию мелатонина (50 и 100 мкМ) на рост, устойчивость к абиотическим стрессам и урожайность сои показали, что мелатонин ускоряет прорастание семян и увеличивает площадь листьев, количество бобов на растении и число семян в бобе, в то время как вес 100 семян не отличается от контрольных растений. Кроме того, растения, обработанные мелатонином, более стрессоустойчивы, нежели контрольные растения. Сходный стимулирующий эффект мелатонина на продуктивность был отмечен для кукурузы (*Zea mays* L.) и огурца (*Cucumis sativus* L.). Интересно отметить, что трансгенные растения риса с высоким содержанием мелатонина в результате сверхэкспрессии гена фермента *SNAT* имели большую биомассу, но позже зацветали и давали меньший урожай зерна. Предполагается, что постоянно высокое содержание мелатонина в растении может привести к иным результатам в плане продуктивности, нежели предпосевная обработка семян растворами мелатонина.



Показано влияние мелатонина на качество плодов томата черри. Плоды были собраны зелеными и помещены в растворы мелатонина разных концентраций (1, 50, 100 и 500 мкМ) на 2 часа. Затем томаты находились при температуре 15 °С и относительной влажности воздуха 80 % в течение 25 дней. Мелатонин значительно увеличил содержание ликопина и окрашивающих пигментов в плодах (рис. 13), а также стимулировал экспрессию нескольких ключевых генов, в том числе и тех, что кодируют фитоенсинтазу, каротинозилмеразу и аквапорины.



**Рис. 13.** Влияние мелатонина на накопление ликопина (А) и содержание каротиноидов (Б) у томатов черри, собранных зелеными и обработанными растворами мелатонина в концентрации 1 мкМ (M1), 50 мкМ (M50), 100 мкМ (M100) или 500 мкМ (M500) с последующим хранением в течение 25 суток. CK – контроль (по: Sun et al., 2015)

Кроме того, у обработанных плодов значительно быстрее происходило созревание, увеличение мягкости, повышалось количество водорастворимого пектина и снижалось содержание протопектина. Такие изменения сопровождалась положительной регуляцией белков, модифицирующих клеточную стенку. Мелатонин также влиял на синтез эти-

лена, его восприятие и передачу сигнала. В то же время известно, что этилен играет основную роль в процессе созревания томатов. Из этих результатов следует, что мелатонин способствует ускорению окрашивания и приобретению плодами аромата через влияние на синтез этилена во время хранения урожая. Очень вероятно, что такое действие мелатонина может проявляться и в отношении плодов других видов.

Результаты, приведенные выше, могут вызывать интерес еще по одной причине. Исследования показывают весьма отдаленный во времени эффект мелатонина. Обработка семян экзогенным мелатонином приводит к стимуляции роста растения в течение жизни и увеличению продуктивности. Поскольку предпосевная обработка семян мелатонином в крупных масштабах не представляет большой сложности, практическое применение мелатонина для повышения продуктивности растений видится вполне возможным. Интересным в практическом применении остается и вопрос о том, являются ли растения, выращенные из обработанных мелатонином семян, более стрессоустойчивыми и/или, возможно, имеют другой химический состав метаболитов. К сожалению, на сегодняшний день нет результатов крупномасштабных производственных испытаний, подтверждающих влияние мелатонина на урожайность растений. Если это подтвердится, то будет означать, что мелатонин может быть эффективным средством повышения продуктивности без увеличения площадей. Мелатонин легко синтезировать в чистой форме, и он недорог, поэтому его использование в практике может быть весьма целесообразным.

## **ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФИТОМЕЛАТОНИНА**

Первым растением, у которого изучали содержание мелатонина в плодах, была вишня (*Prunus cerasus*). У двух исследованных сортов Монморанси и Балатон концентрация мелатонина существенно различалась (13.4 и 2.1 мг/г сырого веса). С учетом того, что мелатонин обладает снотворным эффектом, было предположено и подтверждено: употребление в пищу плодов вишни и в большей степени вишневого концентрированного сока может улучшить качество сна, особенно у по-

жилых людей. Позже было установлено, что мелатонин присутствует почти во всех протестированных растениях и продуктах растительного происхождения. Поэтому неудивительно, что мелатонин был также обнаружен в напитках, изготовленных из растительных продуктов, — кофе, чае, пиве, вине. Однако неожиданным оказалось довольно высокое содержание мелатонина в этих напитках. Очень высокое содержание мелатонина ( $115 \pm 6$  мкг/г сырого веса) было обнаружено в только что собранных кофейных зернах Робуста (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner). Обычно в кофейных зернах, поступающих в продажу, уровень мелатонина в зеленых зернах составляет  $5.8 \pm 0.8$  мкг/г, а в обжаренных —  $8.0 \pm 0.9$  мкг/г. В 1970-х гг. большие количества мелатонина обнаруживали в процессе декофеинизации кофе. Предполагалось, что высокий уровень мелатонина является результатом неизвестной химической реакции. Основываясь на современных представлениях, можно утверждать, что мелатонин не был побочным продуктом химической реакции, а синтезировался самим кофейным растением. Концентрация мелатонина в китайском зеленом и черном чае тоже оказалась высокой. Уровень мелатонина в зеленом чае Shiya, производимом в провинции Гуанси (Китай), составляет 2.12 мкг/г. Концентрация мелатонина в китайском зеленом чае Longjing и черном Wulong составляет несколько сотен нанограмм на грамм.

Несколько групп ученых сообщили о различном уровне мелатонина в винах. Содержание мелатонина в вине колеблется от нескольких пикограмм до многих нанограмм на мл, причем уровень мелатонина в красном вине выше, чем в белом. Мелатонин был обнаружен в винограде; особенно высокое содержание было отмечено в кожуре и семенах. Таким образом, считается, что источником мелатонина в вине является виноград. Однако следует отметить, что и дрожжи продуцируют (до 100 нг/мг белка) и высвобождают мелатонин. Существует гипотеза, что мелатонин в вине, по крайней мере частично, происходит из дрожжей во время брожения. Это может быть применимо и к пиву, так как мелатонин обнаружен и в нем, так же, как и в ячмене, из которого пиво готовят.

Полезный эффект мелатонина как мощного антиоксиданта, потенциально улучшающего здоровье человека, был подробно проанализирован. Было предложено его клиническое использование в случае различных патологий, включая нейродегенеративные заболевания (болезнь

Альцгеймера, болезнь Паркинсона), заболевания сердца, нарушения обмена веществ, опухоли, случайное ядерное облучение. Высокий уровень мелатонина в популярных напитках может оказаться полезным при некоторых из вышеперечисленных патологических состояний. Одна порция кофе (4-5 г обжаренных кофейных зерен) содержит около 40 мкг мелатонина. Уже имеются сообщения об увеличении циркулирующего мелатонина в организме человека после употребления кофе.

Медицинские исследования показали защитный эффект кофе против фиброза печени, гепатита и цирроза печени у экспериментальных животных. Защитный эффект кофе от этих гепатопатологий раньше объясняли антиоксидантными свойствами компонентов кофе. Сегодня известно, что мощный антиоксидант мелатонин присутствует в кофе в высоких концентрациях. В дополнение к экспериментальным исследованиям на животных несколько эпидемиологических исследований предоставили убедительные доказательства значительного снижения распространенности рака предстательной железы при регулярном употреблении кофе. Активные компоненты кофе, отвечающие за защитный эффект, не были идентифицированы. Однако активным агентом является не кофеин, так как декофеинизированный кофе не снижает защитный эффект употребления кофе против рака простаты. Возможно, мелатонин и является тем веществом, которое обеспечивает защиту, так как помимо прочего известно, что мелатонин сильно подавляет пролиферацию опухолевых клеток простаты в культуре.

Для исследования потенциальных полезных эффектов мелатонина была определена его концентрация в красном вине (75 нг/л). Мелатонин, введенный в составе красного вина в сердечные модели крыс, снизил размер инфаркта миокарда с 69 % до 25 %. Защитный эффект мелатонина при сердечной недостаточности был эквивалентен или даже лучше, чем от ресвератрола, который считается главным полезным ингредиентом красного вина. Примечательно, что концентрация ресвератрола в исследовании была в 300 тысяч раз больше (2,3 мг/л), чем концентрация мелатонина.

Мелатонин обнаружен в широко используемых злаковых культурах, включая кукурузу, рис, пшеницу, ячмень и овес. Концентрация мелатонина в этих культурах варьирует от нескольких нг/г до нескольких тысяч пг/г. Детальное исследование показало, что даже в различных сортах

одного вида существует значительная разница в концентрациях мелатонина. Так, например, в разных сортах кукурузы и риса количество мелатонина может отличаться в несколько сотен раз. Похоже, концентрация мелатонина в растениях в значительной степени определяется генетическими особенностями. Однако у некоторых растений на концентрацию мелатонина также влияют возраст, фотопериод, место произрастания, стрессовые воздействия окружающей среды и время сбора урожая.

Концентрация мелатонина в популярных культурах, таких, как рис и кукуруза, довольно высокая, а потребление этих злаков в некоторых развивающихся странах составляет около 500 г на взрослого человека в день. В таком количестве кукурузы или риса содержится более 100 мкг мелатонина. Влияние мелатонина, потребляемого с зерновыми продуктами, в настоящее время пока остается неисследованным.

Существуют два значимых свойства, связанных с уровнем мелатонина в пищевых продуктах. Во-первых, мелатонин, как антиоксидант, оберегает растительные продукты от перекисного окисления, тем самым улучшая их качество и продлевая их срок годности. Во-вторых, регулярное, в течение всей жизни потребление богатых мелатонином продуктов, таких, как кофе, чай, кукуруза и рис, может улучшить здоровье человека.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Исследования действия мелатонина в животной клетке имеют значительно более продолжительную историю, чем изучение фитомелатонина. Они показали, что мелатонин участвует практически во всех процессах жизнедеятельности и контролирует многие функции организма животных.

Данные по растительным организмам только начинают формировать представление о роли фитомелатонина, но уже понятно, что спектр его действия очень широк. Существующая литература достаточно противоречива, тем не менее выделяются разработанные направления, которые начинают формировать знания о роли мелатонина в растениях. Изучение фитомелатонина усложняется тем, что сам растительный организм является одновременно местом и его синтеза, и метаболизма.

---

## СОКРАЩЕНИЯ

АБК – абсцизовая кислота

АФК – активные формы кислорода

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГХ-МС – газовая хроматография с масс-спектрометрией

ЖХ-МС/МС – жидкостная хроматография с tandemной масс-спектрометрией

ИУК – индолил-уксусная кислота

ИФА – иммуноферментный анализ

МДА – малоновый диальдегид

ПОЛ – перекисное окисление липидов

РИА – радиоиммунный анализ

---

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

*Afreen F., Zobayed S.M., Kozai T.*, 2006. Melatonin in *Glycyrrhiza uralensis*: response of plant roots to spectral quality of light and UV-B radiation // J. Pineal Res. V. 41. N 2. P. 108–115.

*Arnao M.B.*, 2014. Phytomelatonin: discovery, content, and role in plants // Adv. Bot. ID 815769. P. 1–11.

*Arnao M.B., Hernandez-Ruiz J.*, 2006. The physiological function of melatonin in plants // Plant Signal. Behav. V. 1. N 3. P. 89–95.

*Arnao M.B., Hernandez-Ruiz J.*, 2007. Melatonin promotes adventitious- and lateral root regeneration in etiolated hypocotyls of *Lupinus albus* L. // J. Pineal Res. V. 42. N 2. P. 147–152.

*Arnao M.B., Hernandez-Ruiz J.*, 2009a. Chemical stress by different agents affects the melatonin content of barley roots // J. Pineal Res. V. 46. N 3. P. 295–299.

*Arnao M.B., Hernandez-Ruiz J.*, 2009b. Protective effect of melatonin against chlorophyll degradation during the senescence of barley leaves // J. Pineal Res. V. 46. N 1. P. 58–63.

*Arnao M.B., Hernandez-Ruiz J.*, 2013. Growth conditions determine different melatonin levels in *Lupinus albus* L. // J. Pineal Res. V. 55. N 2. P. 149–155.

*Arnao M.B., Hernandez-Ruiz J.*, 2014. Melatonin: possible role as light-protector in plants / UV Radiation: Properties, Effects, and Applications. Physics Research & Technology Series // Ed. Radosevich J.A. Nova Science Publishing. P. 79–92.

*Bajwa V.S., Shukla M.R., Sherif S.M. et al.* 2014. Role of melatonin in alleviating cold stress in *Arabidopsis thaliana* // J. Pineal Res. V. 56. N 3. P. 238–245.

*Balzer I., Hardeland R.*, 1996. Melatonin in algae and higher plants: Possible new roles as a phytohormone and antioxidant // Bot. Acta. V. 109. N 3. P. 180–183.

*Balzer I., Höcker B., Kapp H., Bartolomaeus B.*, 2000. Occurrence and comparative physiology of melatonin in evolutionary diverse organisms / The redox state and circadian rhythms // Eds Vanden Driessche T., Guisset J.-L., Petiau-de Vries G. Dordrecht: Kluwer. P. 95–110.



Boccalandro H.E., Gonzales C.V., Wunderlin D.A., Silva M.F., 2011. Melatonin levels, determined by LC-ESI-MS/MS, fluctuate during the day/night cycle in *Vitis vinifera* cv Malbec: evidence of its antioxidant role in fruits // J. Pineal Res. V. 51. N 2. P. 226–232.

Byeon Y., Back K., 2014. An increase in melatonin in transgenic rice causes pleiotropic phenotypes, including enhanced seedling growth, delayed flowering, and low grain yield // J. Pineal Res. V. 56. N 4. P. 408–414.

Byeon Y., Park S., Kim Y.S., Back K., 2013. Microarray analysis of genes differently expressed in melatonin-rich transgenic rice expressing a sheep serotonin N-acetyltransferase // J. Pineal Res. V. 55. N 4. P. 357–363.

Chen Q., Qi W.B., Reiter R.J. et al., 2009. Exogenously applied melatonin stimulates root growth and raises endogenous IAA in roots of etiolated seedling of *Brassica juncea* // J. Plant Physiol. V. 166. N 3. P. 324–328.

Hardeland R., 2015. Melatonin in plants and other phototrophs: advances and gaps concerning the diversity of functions // J. Exp. Bot. V. 66. N 3. P. 627–646.

Hattori A., Migita H., Iigo M. et al., 1995. Identification of melatonin in plants and its effects on plasma melatonin levels and binding to melatonin receptors in vertebrates // Biochem. Mol. Biol. Int. V. 35. N 3. P. 627–634.

Hernandez-Ruiz J., Arnao M.B., 2008. Melatonin stimulates the expansion of etiolated lupin cotyledons // Plant Growth Regul. V. 55. N 1. P. 29–34.

Hernandez-Ruiz J., Cano A., Arnao M.B., 2004. Melatonin: a growth-stimulating compound present in lupin tissues // Planta. V. 220. N 1. P. 140–144.

Hernandez-Ruiz J., Cano A., Arnao M.B., 2005. Melatonin acts as a growth-stimulating compound in some monocot species // J. Pineal Res. V. 39. N 2. P. 137–142.

Kang K., Lee K., Park S. et al., 2010. Enhanced production of melatonin by ectopic overexpression of human serotonin N-acetyltransferase plays a role in cold resistance in transgenic rice seedlings // J. Pineal Res. V. 49. N 2. P. 176–182.

Kolar J., Machackova I., 2005. Melatonin in higher plants: occurrence and possible functions // J. Pineal Res. V. 39. N 4. P. 333–341.

Kolar J., Machackova I., Eder J. et al., 1997. Melatonin: occurrence and daily rhythm in *Chenopodium rubrum* // Phytochemistry. V. 44. N 8. P. 1407–1413.

Lee S.H., Oh H.W., Fang Y. et al., 2015. Identification of plant compounds that disrupt the insect juvenile hormone receptor complex // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. V. 112. N 6. P. 1733–1738.

Li C., Tan D.X., Liang D. et al., 2015. Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behavior in two *Malus* species under drought stress // J. Exp. Bot. V. 66. N 3. P. 669–680.

Li C., Liang D., Chang C. et al., 2016. Exogenous melatonin improved potassium content in *Malus* under different stress conditions // J. Pineal Res. V. 61. N 2. P. 218–229.

Li H., Chang J., Chen H. et al., 2017. Exogenous melatonin confers stress tolerance to watermelon by improving photosynthesis and redox homeostasis // Front. Plant Sci. V. 8. P. 295.

Murch S.J., Campbell S.S.B., Saxena P.K., 2001. The role of serotonin and melatonin in plant morphogenesis: Regulation of auxin-induced root organogenesis in *in vitro*-cultured explants of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) // In vitro Cell. Dev. Biol. Plant. V. 37. N 6. P. 786–793.

Okazaki M., Higuchi K., Aouini A., Ezura H., 2010. Lowering intercellular melatonin levels by transgenic analysis of indoleamine 2,3-dioxygenase from rice in tomato plants // J. Pineal Res. V. 49. N 3. P. 239–247.

Paredes S.D., Korkmaz A., Manchester L.C. et al., 2009. Phytomelatonin: a review // J. Exp. Bot. V. 60. N 1. P. 57–69.

Park S., Back K., 2012. Melatonin promotes seminal root elongation and root growth in transgenic rice after germination // J. Pineal Res. V. 53. N 4. P. 385–389.

Park S., Lee D.E., Jang H. et al., 2013. Melatonin-rich transgenic rice plants exhibit resistance to herbicide-induced oxidative stress // J. Pineal Res. V. 54. N 3. P. 258–263.

Park W.J., 2011. Melatonin as an endogenous plant regulatory signal: debates and perspectives // J. Plant Biol. V. 54. N 3. P. 143–149.

Posmyk M.M., Kuran H., Marciniak K., Janas K.M., 2008. Presowing seed treatment with melatonin protects red cabbage seedlings against toxic copper ion concentrations // J. Pineal Res. V. 45. N 1. P. 24–31.

Posmyk M.M., Balabusta M., Wiczorek M. et al., 2009. Melatonin applied to cucumber (*Cucumis sativus* L.) seeds improves germination during chilling stress // J. Pineal Res. V. 46. N 2. P. 214–223.

Reiter R.J., Tan D.-X., Zhou Z. et al., 2015. Phytomelatonin: assisting plants to survive and thrive // Molecules. V. 20. N 4. P. 7396–7437.

Sarrou E., Therios I., Dimassi-Theriou K., 2014. Melatonin and other factors that promote rooting and sprouting of shoot cuttings in *Punica granatum* cv. Wonderful // Turk. J. Bot. V. 38. N 2. P. 293–301.

Sarropoulou V.N., Therios I.N., Dimassi-Theriou K.N., 2012. Melatonin promotes adventitious root regeneration in *in vitro* shoot tip explants of the commercial sweet cherry rootstocks CAB-6P (*Prunus cerasus* L.), Gisela 6 (*P. cerasus* x *P. canescens*), and MxM 60 (*P. avium* x *P. mahaleb*) // J. Pineal Res. V. 52. N 1. P. 38–46.

Sun Q., Zhang N., Wang J. et al., 2015. Melatonin promotes ripening and improves quality of tomato fruit during postharvest life // J. Exp. Bot. V. 66. N 3. P. 657–668.

Szafranska K., Glinska S., Janas K.M., 2013. Ameliorative effect of melatonin on meristematic cells of chilled and re-warmed *Vigna radiata* roots // Biol. Plant. V. 57. N 1. P. 91–96.

Tal O., Haim A., Harel O., Gerchman Y., 2011. Melatonin as an antioxidant and its semi-lunar rhythm in green macroalga *Ulva* sp. // J. Exp. Bot. V. 62. N 6. P. 1903–1910.

Tan D.-X., Manchester L.C., Liu X. et al., 2013. Mitochondria and chloroplasts as the original sites of melatonin synthesis: a hypothesis related to melatonin's primary function and evolution in eukaryotes // J. Pineal Res. V. 54. N 2. P. 127–138.

Tan D.-X., Manchester L.C., Helton P., Reiter R.J., 2007. Phytoremediative capacity of plants enriched with melatonin // Plant Signal. Behav. V. 2. N 6. P. 514–516.

Tan D.-X., Hardeland R., Manchester L.C. et al., 2012. Functional roles of melatonin in plants, and perspectives in nutritional and agricultural science // J. Exp. Bot. V. 63. N 2. P. 577–597.

Tassel D.L., van, O'Neill S.D., 2001. Putative regulatory molecules in plants: evaluating melatonin // J. Pineal Res. V. 31. N 1. P. 1–7.

Tassel D.L., van, Roberts N., Lewy A., O'Neill S.D., 2001. Melatonin in plant organs // J. Pineal Res. V. 31. N 1. P. 8–15.

Tiryaki I., Keles H., 2012. Reversal of the inhibitory effect of light and high temperature on germination of *Phacelia tanacetifolia* seeds by melatonin // J. Pineal Res. V. 52. N 3. P. 332–339.

Uchendu E.E., Shukla M.R., Reed B.M., Saxena P.K., 2013. Melatonin enhances the recovery of cryopreserved shoot tips of American elm (*Ulmus americana* L.) // J. Pineal Res. V. 55. N 3. P. 435–442.

Wang L., Zhao Y., Reiter R.J. et al., 2014. Changes in melatonin levels in transgenic 'Micro-Tom' tomato overexpressing ovine AANAT and ovine HIOMT genes // J. Pineal Res. V. 56. N 2. P. 134–142.

Wang P., Yin L., Liang D. et al., 2012. Delayed senescence of apple leaves by exogenous melatonin treatment: toward regulating the ascorbate-glutathione cycle // J. Pineal Res. V. 53. N 1. P. 11–20.

Wang P., Sun X., Chang C. et al., 2013. Delay in leaf senescence of *Malus hupehensis* by long-term melatonin application is associated with its regulation of metabolic status and protein degradation // J. Pineal Res. V. 55. N 4. P. 424–434.

Wei W., Li Q.T., Chu Y.N. et al., 2015. Melatonin enhances plant growth and abiotic stress tolerance in soybean plants // J. Exp. Bot. V. 66. N 3. P. 695–707.

Yin L., Wang P., Li M. et al., 2013. Exogenous melatonin improves *Malus* resistance to Marssonina apple blotch // J. Pineal Res. V. 54. N 4. P. 426–434.

Zhang N., Zhao B., Zhang H.J. et al., 2013. Melatonin promotes water-stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.) // J. Pineal Res. V. 54. P. 15–23.

Zhang N., Zhang H.J., Zhao B. et al., 2014. The RNA-seq approach to discriminate gene expression profiles in response to melatonin on cucumber lateral root formation // J. Pineal Res. V. 56. N 1. P. 39–50. e 12403.

Zhang R., Sun Y., Liu Z., Jin W., 2017. Effects of melatonin on seedling growth, mineral nutrition, and nitrogen metabolism in cucumber under nitrate stress // J Pineal Res. V. 62. N 4.

Zhao Y., Qi L.W., Wang W.M. et al., 2011. Melatonin improves the survival of cryopreserved callus of *Rhodiola crenulata* // J. Pineal Res. V. 50. N 1. P. 83–88.

Zhao Y., Tan D.-X., Lei Q. et al., 2013. Melatonin and its potential biological functions in the fruits of sweet cherry // J. Pineal Res. V. 55. N 1. P. 79–88.

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение . . . . .	3
История открытия мелатонина у растений . . . . .	4
Распространение и содержание мелатонина в высших растениях . . . . .	5
Методы определения мелатонина в растениях . . . . .	8
Синтез мелатонина в растениях, поглощение экзогенного мелатонина . .	9
Механизмы действия мелатонина . . . . .	13
Биологические эффекты и физиологическое действие мелатонина в растениях . . . . .	17
Роль мелатонина в процессах роста и развития растений . . . . .	17
Роль мелатонина в других физиологических процессах у растений . .	21
Роль мелатонина в устойчивости растений к абиотическим стрессам	22
Роль мелатонина в устойчивости растений к биотическим стрессам	30
Роль мелатонина при выращивании растений в культуре ткани . . . . .	31
Циркадная ритмика и мелатонин . . . . .	32
Роль мелатонина в процессах старения . . . . .	34
Влияние мелатонина на урожай сельскохозяйственных культур . . . . .	38
Практическое использование фитомелатонина . . . . .	40
Заключение . . . . .	43
Сокращения . . . . .	44
Рекомендуемая литература . . . . .	45

Н а у ч н о е и з д а н и е

**Шибасва** Татьяна Геннадиевна  
**Марковская** Евгения Федоровна  
**Мамаев** Александр Владимирович

## **ФИТОМЕЛАТОНИН**

Учебное пособие

*Печатается по решению Ученого совета  
Института биологии КарНЦ РАН*

Редактор *Е. В. Азоркина*  
Оригинал-макет *Н. Н. Сабанцева*

Фото на обложке:  
пиктограмма, изображающая формулу мелатонина на полях  
в английском графстве Уилтшир (июль 2011 г.) (Стив Александер)

Подписано в печать 16.11.2018. Формат 60×84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>.  
Гарнитура Times. Уч.-изд. л. 2,4. Усл. печ. л. 3,02.  
Тираж 150 экз. Заказ № 524

Федеральный исследовательский центр  
«Карельский научный центр Российской академии наук»  
Редакционно-издательский отдел  
185003, г. Петрозаводск, пр. А. Невского, 50